

Vorstehende, vor mir vollzogene Unterschriften

1. der Frau **Dagmar Schlenzig**, geb. **Schlenzig**
geb. am 16.11.1952, Dipl.-Biochemikerin,
wohnhaft in 06114 Halle, Hegelstraße 12,
von Person bekannt


2. der Chemikerin **Dr. Susanne Manhart**, geborene **Manhart**
geboren am 30. September 1966
wohnhaft Rudolf-Haym-Straße 21, 06110 Halle
zur Gewißheit der Notarin ausgewiesen durch gültigen Lichtbildausweis Nr.
742242584

3. des Herrn **Dr. Hans-Ulrich Demuth**,
geb. am 17.02.1953, Diplom-Biologe,
wohnhaft in 06114 Halle, Hegelstr. 14,
von Person bekannt

4. des Biochemikers **Torsten Hoffmann**
geboren am 21. Oktober 1962
wohnhaft Körnerstraße 06114 Halle
zur Gewißheit der Notarin ausgewiesen durch gültigen Lichtbildausweis Nr.
4763524229

beglaubige ich hiermit.

Halle, 21. Dezember 2000


Dr. Barbara Lilie
Notarin



Prodrugs von DP IV-Inhibitoren

JC960 U.S. PRO
09/745776
12/22/00

Erfindungsgemäß werden Prodrug-Verbindungen von Inhibitoren der Dipeptidyl Peptidase IV (DP IV) bereitgestellt, welche Prodrug-Verbindungen die allgemeine Formel A-B-C aufweisen, wobei

A eine Aminosäure

B die chemische Bindung zwischen A und C oder eine Aminosäure, und

C ein stabiler Inhibitor von DP IV ist.

Es wurde gefunden, daß durch Verabreichung von Inhibitoren (Effektoren) der DP IV bzw. DP IV-analoger Enzymaktivität im Blut eines Säugers, durch deren damit verbundene, temporäre Aktivitätsreduktion, in kausaler Folge die endogenen (oder zusätzlich exogen verabreichten) insulinotropen Peptide Gastric Inhibitory Polypeptide 1-42 (GIP₁₋₄₂) und Glucagon-Like Peptide Amide-1 7-36 (GLP-1₇₋₃₆) (o.a. GLP-1₇₋₃₇ oder deren Analoga) durch DP IV- und DP IV-ähnliche Enzyme vermindert abgebaut werden und damit die Konzentrationsabnahme dieser Peptidhormone bzw. ihrer Analoga verringert bzw. verzögert wird. Die durch die Wirkung von DP IV-Effektoren erzielte, erhöhte Stabilität der (endogen vorhandenen oder exogen zugeführten) Incretine oder ihrer Analoga, die damit vermehrt für die insulinotrope Stimulierung der Incretin-Rezeptoren der Langerhansschen Zellen im Pankreas zur Verfügung stehen, verändert u.a. die Wirksamkeit von körpereigenem Insulin, was eine Stimulierung des Kohlehydratstoffwechsels des behandelten Organismus nach sich zieht. Als Resultat sinkt der Blutzuckerspiegel unter die für Hyperglykämie charakteristi-

sche Glukosekonzentration im Serum des behandelten Organismus. Dadurch können mittels DP IV - Inhibitoren Stoffwechselanomalien wie Übergewicht, Glukosurie, Hyperlipidämie sowie mögliche schwere metabolische Azidosen, Diabetes mellitus, die eine Folge längerer, erhöhter Glukosekonzentrationen im Blut sind, verhindert bzw. gemildert werden [vgl. DE 196 16 486].

Mit Hilfe von DP IV - Inhibitoren kann auch das Eindringen von HIV in CD 26 (DP IV) positive Zellen experimentell verhindert werden [vergl. WAKSELMAN, M., NGUYEN, C., MAZALEYRAT, J.-P., CALLEBAUT, C., KRUST, B., HOVANESSIAN, A.G., Inhibition of HIV-1 infection f CD 26+ but not CD26- cells by a potent cyclopeptidic inhibitor of the DPP IV activity of CD 26. Abstract P 44 of the 24th European Peptide Symposium 1996].

Weiterhin wurde gefunden, daß DP IV neuroaktive Peptide wie Neuropeptid Y und CLIP in ihrer Aktivität modulieren kann [vergl. MENTLEIN, R., DAHMS, P., GRANDT, D., KRUGER, R., Proteolytic processing of neuropeptide Y and peptide YY by dipeptidyl peptidase IV. Regul. Pept. 49, 133 (1993); WETZEL, W., WAGNER, T., VOGEL, D., DEMUTH, H.-U., BALSCHUN, D., Effects of the CLIP fragment ACTH 20-24 on the duration of REM sleep episodes. Neuropeptides, 31, 41 (1997)].

Es ist die Aufgabe der vorliegenden Erfindung, Effektoren von DP IV bereitzustellen, die im Vergleich zu bekannten Inhibitoren eine gesteigerte Wirkung aufweisen und deren Wirkung zeitlich definiert eintritt.

Diese Aufgabe wird durch die Bereitstellung von Prodrug-Verbindungen von Inhibitoren der Dipeptidyl Peptidase IV (DP IV)

gelöst, welche Prodrug-Verbindungen die allgemeine Formel A-B-C aufweisen, wobei

A eine Aminosäure

B die chemische Bindung zwischen A und C oder eine Aminosäure, und

C ein stabiler Inhibitor von DP IV ist.

Überraschenderweise weisen derartige als Prodrugs maskierte Inhibitoren gegenüber nicht maskierten Inhibitoren eine erheblich gesteigerte Wirksamkeit auf: Werden identische Mengen von unmaskierten Inhibitoren der DP IV und von erfindungsgemäßen Prodrugverbindungen eingesetzt, so kommt es bei Wistar-Ratten durch die Prodrug-Verbindungen zu einer Glukosetoleranzverbesserung von bis zu 75 %, siehe auch Tabelle 4.

Diese Verbesserung ist umso erstaunlicher, als gefunden wurde, daß unmaskierte Inhibitoren der DP IV zu 100 % aus dem Magen-Darmtrakt von Säugern resorbiert werden und in den vaskulären Bereich des Körpers eintreten. Es wäre also zu erwarten gewesen, daß Prodrug-Verbindungen, die normalerweise nur eine Zersetzung von oral verabreichten Verbindungen im Magen-Darmtrakt verhindern sollen, zu keiner Steigerung der Wirksamkeit der Inhibitoren führen würden. Es sei nur am Rande vermerkt, daß für einen Fachmann aufgrund dieser Tatsachen außerdem auch gar keine Veranlassung bestand, nach modifizierten Inhibitoren zu suchen, auch wenn Prodrug-Verbindungen an sich bereits bekannt waren, vgl. z.B. PCT/US 97/09421.

Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung werden Prodrug-Verbindungen eingesetzt, in denen B Prolin, Hydroxyprolin, Thiazolidincarbonsäure, Dehydroprolin,

Pipecolinsäure, Azetidincarbonsäure oder Aziridincarbonsäure ist, wobei Prolin und Hydroxyprolin besonders bevorzugt werden. Vorzugsweise stellt B eine Peptidbindung zwischen A und C dar oder ist über Peptidbindungen mit A und C verknüpft.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen weisen dabei insbesondere auch den Vorteil auf, daß die Inhibitoren der DP IV je nach individuellem Bedarf der Patienten freigesetzt werden:

Tritt eine erfindungsgemäße Prodrug-Verbindung mit einem DP IV-Molekül in Wechselwirkung, so wird sie durch das Enzym in die Gruppen A-B und den Inhibitor C gespalten. Der Inhibitor C wird das DP IV-Molekül inhibieren, so daß es keine weiteren Prodrug-Verbindungen mehr aufspalten kann. Liegen weitere DP IV-Moleküle vor, so kommt es so lange zur Spaltung von Prodrug-Verbindungen (wenn eine ausreichende Menge an Prodrug-Verbindungen verabreicht wurde), bis das letzte DP IV-Molekül inhibiert ist. Die übrigen Prodrug-Verbindungen werden nicht zersetzt und stellen somit so lange ein Inhibitordepot dar, bis die Konzentration an DP IV-Molekülen wieder ansteigt bzw. Inhibitormoleküle von der DP IV verdrängt werden bzw. Inhibitormoleküle eliminiert werden und es wiederum zu einer erneuten Spaltung der Prodrug-Verbindungen und somit zu einer Freisetzung von Inhibitoren kommt.

Die Erfindung weist also den weiteren Vorteil auf, daß jeder Organismus genau die Menge an Inhibitor freisetzen wird, die zur Inhibierung der individuell in unterschiedlicher Menge vorliegenden DP IV notwendig ist. Liegt bei einem Patienten DP IV z.B. in hohen Konzentrationen vor, so wird eine große Menge an Inhibitor freigesetzt; liegt nur eine wenig erhöhte Konzentration an DP IV vor, so wird nur eine geringe Menge an Inhibitor freigesetzt.

Weiter werden erfindungsgemäß Prodrug-Verbindungen bevorzugt, in denen C ein Aminoacylpyrrolidid, Aminoacylthiazolidid oder N-Dipeptidyl, O-Acyl Hydroxylamin ist. Derartige Inhibitoren haben sich als besonders wirksame DP IV-Inhibitoren herausgestellt. Als Beispiele derartiger Inhibitoren können z.B. Ile-Thia, Ile-Pyr, Val-Thia und Val-Pyr genannt werden.

Die Inhibitoren (Komponente C) können erfindungsgemäß auch in Salzform vorliegen, wobei organische Salze wie Acetate, Succinate, Tartrate oder Fumarate oder anorganische Säurereste wie Phosphate oder Sulfate bevorzugt werden. Besonders bevorzugt werden Fumarate.

Insbesondere werden Verbindungen bevorzugt, in denen A-B ein Dipeptid der Formel Ile-Pro oder Gly-Pro ist.

Die vorliegende Erfindung betrifft also neue Prodrug-Verbindungen von Inhibitoren der Serinpeptidase Dipeptidyl Peptidase IV, die zur Behandlung von verschiedenen Erkrankungen insbesondere von mit Diabetes mellitus im Zusammenhang stehenden Stoffwechselerkrankungen eingesetzt werden können.

Ein weiterer Vorteil der erfindungsgemäßen Prodrug-Verbindungen besteht darin, daß der Wirkungseintritt und auch die Wirkungsdauer der DP IV-Inhibitoren durch geeignete Auswahl der Gruppen A-B zeitlich gesteuert werden kann. Insbesondere hängt die Freisetzung der Gruppen A-B aus den erfindungsgemäßen Prodrug-Verbindungen von der Natur des Aminosäurerestes von A ab: Bezüglich der Definition der Gruppe A wurde insbesondere folgende Reihenfolge der Freisetzungsgeschwindigkeit der Reste A-B aus den Prodrug-Verbindungen A-B-C durch DP IV gefunden: Ile<Val<Phe<Pro<Ala<Gly. Die Geschwindigkeitskonstanten der

entsprechenden DP IV-katalysierten Freisetzungen liegen zwischen 1 s^{-1} und 100 s^{-1} . Damit steht ein Mittel zur Verfügung, die DP IV-Inhibitoren zeitlich exakt definiert freizusetzen: Soll die Wirkung der Enzyme sofort, z.B. bei Aufnahme Glukose-reicher Nahrung eintreten, so wird eine Verbindung A-B-C gewählt, die als Gruppe A z.B. die Aminosäure Gly aufweist; soll erst eine verzögerte Wirkung des Inhibitors eintreten, so kann als Gruppe A z.B. die Aminosäure Ile ausgewählt werden. DP IV-Inhibitoren können durch die erfindungsgemäßen Prodrug-Verbindungen also insbesondere nahezu verzögerungsfrei, z.B. nahezu gleichzeitig mit aufgenommenen Nahrungsmitteln durch die Dünndarmmucosa transportiert werden.

Stellt B eine Bindung dar, so ist es insbesondere eine Peptidbindung; stellt B eine Aminosäure dar, so ist diese vorzugsweise über Peptidbindungen mit A und C verknüpft.

Bei der Analyse der Dosis-Wirkungs-Beziehungen des DP IV - Inhibitors Isoleucyl Thiazolidid als Modulator der Blutglukosekonzentration im Säugetierorganismus kann ein Unterschied zwischen oraler und parenteraler Applikation des Wirkstoffes an Wistarratten festgestellt werden: Bei oraler Applikation wurde eine Sättigung der Aufnahme des Wirkstoffs (gemessen an der Inhibierung des Serumenzym) beobachtet, während bei parenteraler Applikation des Inhibitors eine vollständige Hemmung des Enzyms beobachtet wurde. Das ist in Tabelle 1 beispielhaft belegt:

Tabelle 1: Restaktivität der DP IV gegenüber 0,4 mM des Substrates H-Gly-Pro-pNA bei 30°C, pH 7,6 und einer Ionenstärke von 0,125, nach i.v. und p.o. Gabe und in Abhängigkeit von der Dosis Isoleucyl Thiazolidid (Ile-Thia), bestimmt 30 min nach Applikation des Inhibitors.

Ile-Thia Dosis bei parenteraler Gabe	DP IV- Aktivität in %	Ile-Thia Dosis bei oraler Gabe	DP IV- Aktivität in %
0 mg	100	0 mg	100
0,02 mg	80	2,5 mg	52
0,2 mg	32	5,0 mg	40
2 mg	5	10 mg	28
20 mg	0	20 mg	29

Da auch im Darm Enzyme, insbesondere hohe Konzentrationen an DP IV, vorhanden sind, die die abspaltbaren Gruppen von Prodrugs abspalten und damit das Medikament freisetzen können, und ferner - wie bereits erwähnt - gefunden wurde, daß DP IV Inhibitoren quantitativ aus dem Magen-Darmtrakt resorbiert werden, war zu erwarten, daß der Einsatz von Prodrug-Verbindungen von DP IV-Inhibitoren keine Verbesserung dieser Situation bringen würde.

Es war daher ausgesprochen überraschend, daß gefunden wurde, daß die erfindungsgemäßen Prodrugs von DP IV-Inhibitoren gegenüber den korrespondierenden unmaskierten DP IV - Inhibitoren eine deutlich verstärkte Glukosetoleranz im Glukosetoleranztest bewirken. Dieses Verhalten war insofern besonders überraschend als die Prodrugs - wie vorstehend erwähnt -

bereits im Darm durch dort vorliegende Enzyme wie die Dipeptidylpeptidase gespalten werden können und somit genau wie die unmaskierten Inhibitoren nicht mehr für einen Transport an den Zielort zur Verfügung stehen sollten:

Sobald die Prodrug-Verbindungen durch im Darm vorliegende DP IV oder andere Enzyme gespalten werden, werden die erfindungsgemäßen Inhibitoren freigesetzt, wodurch es genau wie beim Einsatz von unmaskierten Inhibitoren zu einer Inhibierung der DP IV kommt. Folglich findet kein weiterer Abbau der Prodrug-Verbindungen durch DP IV mehr statt; alle noch unzersetzt vorliegenden oder zusätzlich zugeführten Prodrug-Verbindungen können ebenso wie überschüssige, das heißt nicht an DP IV gebundene unmaskierte Inhibitoren unzersetzt aus dem Magen-Darm-Trakt in den vaskulären Bereich eines Körpers übertreten. Dort können sie dann, wie vorstehend erwähnt, je nach individuellem Bedarf als DP IV Inhibitoren eingesetzt werden. Doch auch die im Darm an DP IV gebundenen Inhibitoren werden nach einer gewissen Zeit wieder freigesetzt und treten in den vaskulären Bereich ein.

Mit Hilfe der erfindungsgemäßen Prodrug-Verbindungen kann also auch eine erwünschte Wirkungsverstärkung *in vivo* erreicht werden.

Ferner kann auch der Freisetzungs- und Wirkungsort der DP IV-Inhibitoren durch die Art der Reste A-B gesteuert werden:

Im Blut von Säugern liegen neben der Dipeptidyl Peptidase IV verschiedene andere Aminopeptidasen wie z. B. Pyroglutamyl Aminopeptidase und Prolyl Aminopeptidase vor. Durch geeignete Auswahl der Reste A-B kann erfindungsgemäß festgelegt werden,

durch welche Amino-peptidase der DP IV-Inhibitor freigesetzt werden soll und somit bestimmt werden, wo die Wirkung des Inhibitors eintreten soll. Die erfindungsgemäßen Prodrug-Verbindungen oder entsprechende pharmazeutische Zusammensetzungen können also auch zur zell-, gewebs- oder organspezifischen Inhibierung von DP IV eingesetzt werden. Die Gruppen A-B können auch so ausgewählt werden, daß nur solche Enzyme angesprochen werden, die nur vaskulär präsent sind und die die Inhibitoren mit ausreichend hoher Geschwindigkeit freisetzen.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß durch die erfindungsgemäßen Prodrug-Verbindungen von DP IV-Inhibitoren in völlig überraschender Weise:

1. Eine erhöhte Wirkung der Inhibitoren erreicht werden kann;
2. Die Freisetzung der Inhibitoren je nach Bedarf der Patienten erfolgen kann;
3. Die Freisetzung der Inhibitoren aus den Prodrug-Verbindungen zeitlich gesteuert erfolgen kann;
4. Die Freisetzung der Inhibitoren aus den Prodrug-Verbindungen bezüglich des Freisetzungsorts gesteuert werden kann; und
5. Ein Depot von DP IV-Inhibitoren bereitgestellt werden kann.

Erfindungsgemäß werden außerdem pharmazeutische Zusammensetzungen insbesondere zur oralen Verabreichung bereitgestellt, die dadurch gekennzeichnet sind, daß sie mindestens eine erfindungsgemäße Prodrug-Verbindung gegebenenfalls in Kombination mit üblichen Trägern oder Hilfsstoffen enthält.

Die erfindungsgemäßen Prodrug-Verbindungen oder sie enthaltende pharmazeutischen Zusammensetzungen können zur Behandlung oder Prophylaxe von Erkrankungen von Säugern eingesetzt werden, die durch Modulation der DP IV-Aktivität eines Säugers behandelt werden können, wie z.B. von Stoffwechselerkrankungen von Menschen.

Insbesondere können sie zur Behandlung von beeinträchtigter Glukosetoleranz, Glukosurie, Hyperlipidämie, metabolischen Azidosen, Diabetes mellitus, diabetischer Neuropathie und Nephropathie sowie von durch Diabetes mellitus verursachten Folgeerkrankungen von Säugern eingesetzt werden.

Beispiele

1. Synthese von erfindungsgemäßen Prodrugverbindungen

1.1. Synthese von H-Pro-Ile-Thia / HCl

6,5 mM Boc-Pro-Ile-OH (ein Equivalent = 1 eq.) werden mit N-Hydroxybenzotriazol (1 eq.) und Thiazolidin (1 eq.) in 30 ml Dichlormethan (DCM) suspendiert. Bei -10 °C wird unter Rühren die äquivalente Menge einer 1 M Dicyclohexylcarbodiimid-Lösung zugetropft. Man läßt bei -10 °C und über Nacht bei Raumtemperatur (RT) rühren. Zur Aufarbeitung wird gründlich vom ausgefallenen Dicyclohexylharnstoff abfiltriert, DCM im Vakuum abgezogen und der erhaltene Rückstand in Essigester aufgenommen. Die Essigesterlösung wird mindestens dreimal mit gesättigter Bicarbonat-Lösung, einmal mit gesättigter NaCl-Lösung, dreimal mit verdünnter KHSO₄-Lösung und nochmals mit NaCl-Lösung gewaschen. Die Essigesterphase wird über Na₂SO₄ getrocknet, einro-

tiert und das verbleibende Rohprodukt mit Essigester/Pentan umkristallisiert. Boc-Pro-Ile-Thia kristallisiert nach 1-2 Tagen bei 4°C (Ausbeute 80%). Boc-Pro-Ile-Thia wird mit 1,1 N HCl/Eisessig-Lösung (3 ml pro mmol Peptid) versetzt. Man läßt zwei Stunden bei RT rühren, versetzt mit absolutem Ether und dampft überschüssige Abspaltungslösung am Rotationsverdampfer ab. Das Hydrochlorid kristallisiert quantitativ unter absolutem Ether über Nacht bei 4°C. Man saugt die Kristalle schnell unter mehrfachem Waschen mit absolutem Ether ab und bewahrt das Produkt im Exsikator über KOH oder Phosphorpentoxid auf.

1.2. Synthese von H-Gly-Pro-Ile-Thia / HCl

Boc-Gly-OH (1 eq.) wird in 20 ml Tetrahydrofuran (THF) gelöst, auf -10 °C gekühlt und unter Rühren nacheinander mit N-Methylmorpholin (1 eq.) und Chlorameisensäureisobutylester (1 eq.) versetzt. Man läßt etwa 20 min aktivieren. Parallel dazu wird Pro-Ile-Thia x HCl (1 eq.) in 10 ml THF suspendiert auf -10 °C temperiert und mit N-Methylmorpholin (1 eq.) zur Neutralisation versetzt. Nach beendeter Aktivierungszeit werden beide Lösungen miteinander vermischt, nach ein bis zwei Stunden auf Raumtemperatur erwärmt und über Nacht gerührt. Danach wird das Reaktionsgemisch mit wenig Wasser versetzt und THF im Vakuum abdestilliert. Der verbleibende Rückstand wird in Essigester aufgenommen und mindestens dreimal mit gesättigter Natrium Bicarbonatlösung, einmal mit gesättigter NaCl-Lösung, dreimal mit verdünnter KHSO₄ und nochmals mit NaCl-Lösung gewaschen. Man trocknet die Essigesterphase über Na₂SO₄, rotiert ein und kristallisiert das Product Boc-Gly-Pro-Ile-Thiazolidid mit Essigester/Pentan um (Ausbeute 85 %). Die Boc-Abspaltung wird

analog der Synthese von H-Pro-Ile-Thia / HCl durchgeführt
(Ausbeute > 95 %).

**Tabelle 2: Analysedaten von Prodrugs von Inhibitoren der Di-
peptidyl Peptidase IV**

Substanz	MG be- rechnet [g/mol]	MG gefun- den M+H ⁺	CE Reinheit Retentions- zeit (Rt)	HPLC Rein- heit Rt	Schmelz- punkt °C
pGlu-Ile-Thia*HCl	349,84	314,8	4,2 min	10,4min	30-40
Pro-Ile-Thia*HCl	335,90	300,8	4,5 min	10,05 min	45-69
Gly-Pro-Ile-Thia*HCl	392,94	357,8	4,6 min	8,8 min	111-121
Ile-Pro-Ile-Thia*HCl	449,05	413,6	5,6 min	10,0 min	98-107
Pro-Pro-Ile-Thia*HCl	433,01	397,6	5,3 min	11,35 min	101-118

Bedingungen für die Analytik:

HPLC Säule: LiChrospher 250-4, 100 RP-18, 5µm, Temperatur 25°C

Eluent: 30% ACN, 0,1% TFA, isokratisch, Flußgeschwindigkeit 0,5ml/min

Detektienswellenlänge: 210nm

CE Kapillare: 30cmx50µm fused silica, Temperatur 25°C

Detektienswellenlänge: 200nm

Injektion: 5sec, 50mbar

Trennung: 0,1 M Na-Phosphatpuffer, pH 2,5; Dauer 7min bei 12kV

2. Affinität und Transport verschiedener Peptide, DP IV-Inhibitoren und Prodrugs zum Peptidtransporter PepT1

Die Affinität verschiedener Peptide, DP IV-Inhibitoren und Prodrugs von Inhibitoren der DP IV zum Peptidtransporter PepT1 wurde mittels Verdrängung des radioaktiv markierten Substrates D-Phe-Ala analysiert [AMASHEH, S., WENZEL, U., WEBER, W.M., CLAUSS, W., DANIEL, H., Electrophysiological analysis of the

function of the mammalian renal peptide transporter expressed in *Xenopus laevis* oocytes. J. Physiol. 504, 169-174 (1997)]. Dabei zeigt sich, daß beispielsweise das Tetrapeptidderivat Ile-Pro-Ile-Thia vergleichbar bzw. besser als ausgewählte Aminosäure Derivate an das Transporterprotein PepT1 gebunden und im Vergleich zu ausgewählten Aminosäure- bzw. Peptid-analoga ähnlich oder besser transportiert wird (Tabelle 3).

Tabelle 3: Transporteigenschaften verschiedener Aminosäure- und Peptidderivate am humanen Peptidtransporter PepT1

Aminosäure- bzw. Peptidderivat	Elektrophys. Transportanalyse (hPEPT1 in Oocyten expr.), Flux % zur Kontr. Gly-Gln (100 %)	Bindungskonstante mM zu PepT1, relativ zu D-Phe-Ala
Lys-Phe	95	0,08
Lys-Phe-Pro	10	0,19
Asn-Pyr	30	3,01
Asn-Thia	83	0,50
His-Pyr	7	5,34
His-Thia	12	0,57
Ile-Pyr	14	2,66
Ile-Thia	25	0,98
Ile-Pro-Ile-Thia	44	0,61

Freisetzung des aktiven DP IV-Inhibitors Ile-Thia aus erfindungsgemäßen Prodrugs in humanem Vollblut

Gemäß einer Ausführungsform von erfindungsgemäßen Prodrugs von DP IV-Inhibitoren ist auch eine retardierte Freisetzung von DP IV-Inhibitoren im Zielkompartiment, z.B. im Blutkreislauf möglich.

In Abbildung 1 ist die zeitabhängig differenziert verlaufende Inhibierung von humaner Blut-DP IV durch Freisetzung des Inhibitors Isoleucyl Thiazolidid aus erfindungsgemäßen Prodrug-Verbindungen exemplarisch dargestellt. Die Freisetzung des maskierten DP IV-Inhibitors im Blut kann im Falle der ausge-

wählten Beispiele (Pro-Pro-Ile-Thia = PPITHia, Gly-Pro-Ile-Thia = GPITHia) durch DP IV selbst bzw. durch Aminopeptidasen (pGlu-Ile-Thia = pEITHia, Pro-Ile-Thia = PITHia) erfolgen (Abbildung 1). Die Freisetzung des DP IV-Inhibitors Isoleucyl Thiazolidid aus den Prodrug-Verbindungen erfolgt im Blut bei gleicher eingesetzter Konzentration der Prodrugverbindung mit differenzierter Effizienz, wobei sich für Pro-Pro-Ile-Thia (PPI Thia) und pGlu-Ile-Thia (pEI Thia) eine im Vergleich zu Pro-Ile-Thia (PI Thia) und Gly-Pro-Ile-Thia (GPI thia) stärker retardierte Wirkstoff-Freisetzung zeigt.

3. Verstärkung der über DP IV-Inhibitoren vermittelten Glukosetoleranz durch den Einsatz von Prodrugs

Durch Überführung des aktiven Wirkstoffes Isoleucyl Thiazolidid in erfindungsgemäße Prodrugs beobachtet man nach oraler Applikation bei der Wistar-Ratte ein deutlich verbessertes Wirkprofil (Abbildung 2). Die erwünschte Reduktion des Blutglukosespiegels durch DP IV-Inhibitoren im untersuchten Zeitintervall wird durch Einsatz der Prodrug-Verbindungen erfindungsgemäß gegenüber dem unmaskierten Wirkstoff Ile-Thia etwa um 30 % verstärkt (Tabelle 4):

Tabelle 4: Abhängigkeit des Blutglukosespiegels innerhalb von 100 Minuten nach p.o. Glukosestimulierung und p.o. Verabreichung von Ile-Thia bzw. erfindungsgemäßen Prodrugs an Wistar-Ratten (Dosis: 2,5 μ M Wirkstoff/300 g Tier)

Wirkstoff/ Prodrug	% Glukosespiegel
Kontrolle	100
Ile-Thia	74,4
Gly-Pro-Ile-Thia	57,1
Pro-Ile-Thia	56,1

Patentansprüche

1. Prodrug-Verbindungen von Inhibitoren der Dipeptidyl Peptidase IV (DP IV), welche Prodrug-Verbindungen die allgemeine Formel A-B-C aufweisen, wobei

A eine Aminosäure

B die chemische Bindung zwischen A und C oder eine Aminosäure, und

C ein stabiler Inhibitor von DP IV (ohne C-terminalen Phosphonatrest) ist.

2. Prodrug-Verbindungen nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß B Prolin, Hydroxyprolin, Thiazolidincarbonsäure, Dehydroprolin, Pipecolinsäure, Azetidincarbonsäure oder Aziridincarbonsäure ist.

3. Prodrug-Verbindungen nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß B Prolin, Hydroxyprolin ist.

4. Prodrug-Verbindungen nach einem der vorstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß C ein Aminoacylpyrrolididⁿ, Aminoacylthiazolididⁿ oder N-Dipeptidyl, O-Acyl Hydroxylamin ist.

5. Prodrug-Verbindungen nach einem der vorstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Inhibitoren in Salzform vorliegen.

6. Prodrug-Verbindungen nach einem der vorstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß A-B ein Dipeptid der Formel Ile-Pro oder Gly-Pro ist.

7. Pharmazeutische Zusammensetzung insbesondere zur oralen Verabreichung, dadurch gekennzeichnet, daß sie mindestens eine Prodrug-Verbindung nach einem der vorstehenden Ansprüche gegebenenfalls in Kombination mit üblichen Trägern oder Hilfsstoffen enthält.

8. Verwendung von Prodrug-Verbindungen oder pharmazeutischen Zusammensetzungen nach einem der vorstehenden Ansprüche zur Herstellung eines Medikaments zur zeitlich gesteuerten in vivo Inhibierung von DP IV.

9. Verwendung von Prodrug-Verbindungen oder pharmazeutischen Zusammensetzungen nach einem der Ansprüche 1 bis 6 zur zell-, gewebs- oder organspezifischen Inhibierung von DP IV.

10. Verwendung von Prodrug-Verbindungen oder pharmazeutischen Zusammensetzungen nach einem der Ansprüche 1 bis 6 zur Behandlung von Erkrankungen von Säugern, die durch Modulation der DP IV-Aktivität eines Säugers behandelt werden können.

11. Verwendung nach Anspruch 9 zur Behandlung von Stoffwechselerkrankungen von Menschen.

12. Verwendung nach Anspruch 9 zur Behandlung von beeinträchtigter Glukosetoleranz, Glukosurie, Hyperlipidämie, metabolischen Azidosen, Diabetes mellitus, diabetischer Neuropathie und Nephropathie sowie von durch Diabetes mellitus verursachten Folgeerkrankungen von Säugern.

Zusammenfassung

Die vorliegende Erfindung betrifft Prodrug-Verbindungen von Inhibitoren der Dipeptidyl Peptidase IV (DP IV), welche Prodrug-Verbindungen die allgemeine Formel A-B-C aufweisen, wobei

A eine Aminosäure

B die chemische Bindung zwischen A und C oder eine Aminosäure, und

C ein stabiler Inhibitor von DP IV ist.

Derartige Prodrug-Verbindungen werden zur Behandlung von beeinträchtigter Glukosetoleranz, Glukosurie, Hyperlipidämie, metabolischen Azidosen, Diabetes mellitus, diabetischer Neuropathie und Nephropathie sowie von durch Diabetes mellitus verursachten Folgeerkrankungen von Säugern verwendet.

Abbildung 1 : Inhibierung der DP IV in humanem Vollblut durch Freisetzung des
DP IV-Inhibitors Ile-Thia aus erfindungsgemäßen Prodrugs

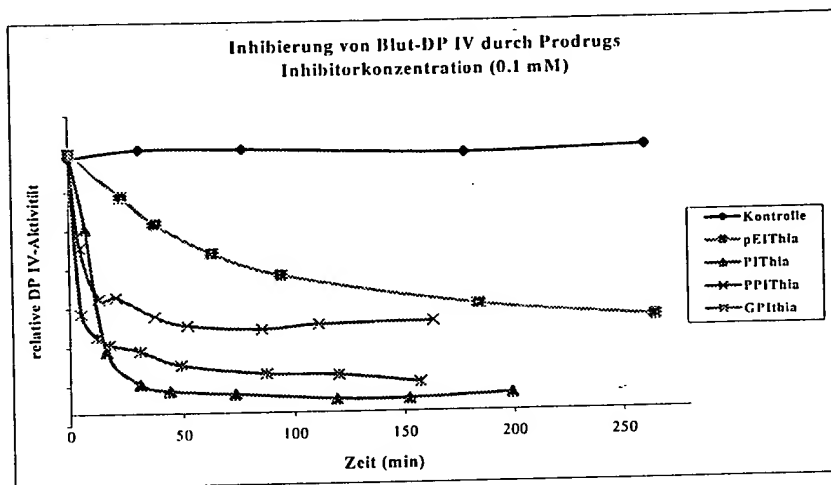


Abbildung 2 : Glukosespiegel in Serum nach oraler Glukosestimulierung und
p.o. Prodrug-Gabe an die Wistarratte

